

# 薄層クロマトグラフィーによる有機塩素系農薬の検出法

——クロルデンを中心として——

沼田 一

沢登 春成

最近、生物モニタリング等の調査において、対象生物種からPCB、HCB、ディルドリン等と共にクロルデン、ノナクロル等の有機塩素系殺虫剤が検出され、あらたな環境汚染物質として注目されている<sup>1,2)</sup>。

水中におけるこれら有機塩素系の農薬、殺虫剤に対する試験法として上水試験方法ではガスクロマトグラフ法および薄層クロマトグラフィーが採用されている<sup>3)</sup>が、あらたな汚染物質の出現により、有機塩素系化合物確認法としての薄層クロマトグラフィーについても、上水試験方法の検討課題としてとりあげられている<sup>4)</sup>。

これらのことから、今回クロルデンを中心としてこの課題について検討を行ったのでその結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 装置・器具

展開槽：トーヨーハンギング式薄層クロマト

Model HPS 204

紫外線照射灯：マルチバンド UVSL

エッペンドルフマイクロピペット：10  $\mu$ l 用

### 2. 試薬・試液

薄層クロマトグラフィー用 ワコーゲル B-10,  
ワコーゲル プレート,  
キーゼルゲール G

発色試液：5% オルトトリジン・アルコール液

標準液：0.5% アントラセン・ヘキサン液

標準物質： $\alpha$ -Chlordan,  $\gamma$ -Chlordan (1, 2, 4, 5, 6, 7,  
8, 8-octachloro-2, 3, 3a, 4, 7, 7a-hexahydro-4, 7-  
methanoindene) 10 mg/ml ヘキサン液, ポリサ  
イエンス・コーポレーション キット No.51  
(DDT, Dieldrin, Lindane, Aldrin, Endrin,  
Methoxchlor, Heptachlor, TDE, Perthane,  
Toxaphene, Strobane, Mirex 1% ベンゼン液  
Endosulfan 1%メタノール液)

展開剤：ヘキサン 450 ml および酢酸エチル 50 ml 混  
液

### 3. 操 作

(プレートの作成)

(1) ワコーゲルB-10またはキーゼルゲールG 30 g

を乳鉢中に採取、水 60ml を加え乳棒でよくねり合せてペーストとした後、アプリケータを用い厚さ 500  $\mu$ m または 250  $\mu$ m の薄層用プレート (20 $\times$ 20 cm) を作成し、130 $^{\circ}$ C で1時間加熱活性化後使用する。

(2) ワコーゲル プレート (20 $\times$ 20 cm) を 130 $^{\circ}$ C で1時間加熱活性化後使用する。

(展開および発色)

活性化薄層用プレート上にマイクロピペットを用いて検液 10  $\mu$ l を、同時に対照標準としてアントラセン溶液を並べて塗布後、約10分間風乾し、このプレートを展開剤約 500 ml を入れた展開槽中につるし、一次元上昇法により約 10 cm の距離に展開する。約10~15分間風乾、オルトトリジン液を噴霧約5分後、短波長紫外線照射灯を用い、約10分間照射し褐色のスポットをすみやかに確認する。

## 結果および考察

(クロルデンの検出下限)

有機塩素系化合物の薄層クロマトグラフィーによる発色剤に関し、Kawashiroらは各種の発色試薬について検討の結果、芳香族アミン特にオルトトリジンのアルコール溶液を噴霧後UVを照射することによって、きわめて感度よく検出されることを報告している<sup>5,6)</sup>。

しかし、オルトトリジンは現在毒性の点で問題視されているが、簡便性また感度の点すぐれており、今回は公定法と同様オルトトリジン液を発色剤に採用し、クロルデンの検出下限値を求めた結果、表1に示したように $\alpha$ ,  $\gamma$ 共に2~1  $\mu$ g まで確認され、この測定値は、Kawashiro らの報告による DDT, aldrin 等の有機塩素系化合物と一致する検出下限値を示していた。

上水試験方法によると、有機塩素系農薬・殺虫剤の測定法として、試料水 2 l を用い、ヘキサン抽出後フロリジルカラムでクリーンアップしてガスクロマトグラフィーで測定 (最終検液量 10 ml), 更に窒素ガスを送って約0.1 ml に濃縮し、その10~20  $\mu$ l を用いて薄層クロマトグラフィーにより確認する方法が採用されている。この方法によると、クロルデン等の有機塩素系化合物の場合、薄層クロマトグラフィーによる試料水の検出下限値 (スポット量 10  $\mu$ l) は5~10  $\mu$ g/l となる。しかしながら

表1 クロルデンの薄層クロマトグラフィーによる検出下限

化合物	塗布量 μg/10μl	照射時間	
		5 min	10 min
α-Chlordan	40	+	+
	20	±	+
	10	-	+
	5	-	+
	2	-	+
	1	-	±
	0.5	-	±
γ-Chlordan	40	+	+
	20	±	+
	10	-	+
	5	-	+
	2	-	+
	1	-	±
	0.5	-	±

発色試液) 5%オルトトリジン・アルコール液

環境試料水の測定を目的とする場合更に検出感度を上昇させることが望ましく、すなわち、最終液量を0.02~0.04 ml にまで濃縮(窒素ガスを送って溶媒を揮散乾燥後、マイクロピペットを用いてヘキサン 0.02~0.04 ml を加えて残留物を溶解させる)することにより、その検出下限値は1~2 μg/l にまで上昇、環境試料水にも十分適用し得るものと考えている。

(有機塩素系農薬のクロマトグラフィー)

クロルデンと共に、各有機塩素系農薬に対する薄層クロマトグラフィーによる検討結果を表2に示した。

この結果キーゼルグール プレート(ケイソウ土プレート; 展開剤、石油エーテル・オクタン混液)の場合、各化合物は全く分離されず、一方、シリカゲルプレートでは展開剤ヘキサン・酢酸エチル混液を用いることにより、各有機塩素系農薬の分離確認法として十分目的を達せられることを認めた。

各化合物の分離確認に際し、上水試験方法では薄層クロマトグラフィーによるRf値の変動が大きいことから、標準品と並べて展開し比較することとしているが、

表2 有機塩素化合物の薄層クロマトグラフィー

化合物	プレート条件		ワコーゲル			B 10			市販ワコーゲルプレート			キーゼルグールG		
	500 μm		250 μm			250 μm			250 μm			250 μm		
	n	Rf(H)	Rf	n	Rf(H)	Rf	n	Rf(H)	Rf	n	Rf(H)	Rf(P)		
Anthracene	5	0.60	1.00	2	0.64	1.00	1	0.66	1.00	1	1.00	1.00		
1) α-Chlordan	5	0.59	0.99	2	0.63	0.98	1	0.67	1.01	1	1.00	1.00		
2) γ-Chlordan	5	0.57	0.98	2	0.62	0.97	1	0.66	1.00	1	1.00	1.00		
3) DDT	2	0.63	1.05	1	0.65	1.03	1	0.68	1.01	1	1.00	1.00		
4) Dieldrin	2	0.44	0.79	1	0.53	0.84	1	0.54	0.81	1	1.00	1.00		
5) Lindane	2	0.42	0.75	1	0.50	0.79	1	0.52	0.78	1	1.00	1.00		
6) Aldrin	2	0.71	1.11	1	0.69	1.10	1	0.73	1.09	1	1.00	1.00		
7) Endrin	1	0.08	0.13	1	0.12	0.18	1	—	—	1	—	—		
		0.46	0.72		0.58	0.89		0.63	0.97					
8) Methoxychlor	1	0.34	0.58	1	0.50	0.77	1	0.54	0.83	1	0.54	0.83		
9) Heptachlor	1	0.64	1.08	1	0.73	1.12	1	0.69	1.06	1	0.69	1.06		
10) TDE	1	0.54	0.92	1	0.61	0.97	1	0.73	1.09	1	0.73	1.09		
11) Perthane	1	0.62	1.05	1	0.53	0.82	1	0.70	1.08	1	0.70	1.08		
12) Toxaphene	1	0.54	0.92 (tailing)											
13) Strobane	1	0.50	0.85 (tailing)											
14) Endosulfane	1	0.21	0.36	1	0.25	0.38	1	0.39	0.60	1	0.39	0.60		
		0.59	1.00		0.63	0.97		0.68	1.05					
15) Mirex	1	0.72	1.13											

Rf(H): ヘキサン+酢酸エチル(9+1)

Rf(P): 石油エーテル+ジエーオクタン(9+1)

今回、Kawashiro らと同様にアントラセンを対照標準物質として用い、試料と並べて展開して得た Rf 値と、各化合物との Rf 相対値 (試料 Rf / アントラセン Rf) をもって結果を示す方法は、各化合物特有の Rf 相対値が得られ、その確認は容易となりクロルデンの場合 DDT に近似し、アントラセンと一致する Rf 値を示していた。

プレートの作成において上水試験方法では厚さ 500 μm が採用されているが、今回、250 μm のプレートについて検討したところ、比較的均一性が保たれ、また、各有機塩素系農薬の分離は良好であった。市販のシリカゲルプレート製品もその目的を達することは十分可能であったが、各有機塩素系農薬の Rf 値は近似する傾向がみられた。

### ま と め

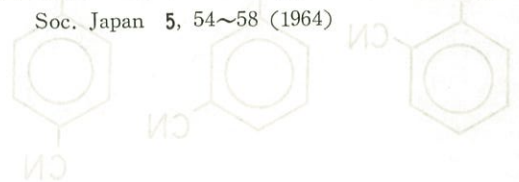
1. クロルデンは、各有機塩素系農薬と同様に、シリカゲルプレート、展開剤 ヘキサン・酢酸エチル混液 (9 + 1) および発色剤 オルトトリジン溶液を用いる薄層ク

ロマトグラフィーにより分離確認され、その検出下限値は 2 ~ 1 μg であった。

2. 薄層クロマトグラフィーによる有機塩素系農薬の測定に際し、アントラセンを対照標準とし、Rf 相対値を求める方法は効果的であり、クロルデンの Rf 値はこの標準試料にほぼ一致していた。

### 文 献

- 1) 環境庁：化学物質と環境 (ケミカルアセスメントアニュアルレポート), 103~122 (1981)
- 2) Yamagishi, T., Miyazawa, T. and Akiyama, K.: J. Food Hyg. Soc. Japan 22, 270~278(1981)
- 3) 日本水道協会：上水試験方法, 473~477 (1978)
- 4) 日本水道協会：水質試験方法等調査専門委員会 (1981)
- 5) 石川正幸, 原 昭二, 古谷 力, 中沢泰男編：薄層クロマトグラフィー (基礎と応用), 197~198(1974)
- 6) Kawashiro, I. and Hosogi, Y.: J. Food Hyg. Soc. Japan 5, 54~58 (1964)



### 表 式 離 別

試 料	試 薬	試 液	試 板	試 法
クロルデン	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
DDT	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
γ-HCH	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
α-HCH	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
β-HCH	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
δ-HCH	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
α-BHC	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
β-BHC	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
γ-BHC	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
δ-BHC	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
α-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
β-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
γ-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
δ-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
ε-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
η-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
θ-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
イソ-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
ノル-PCB	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
α-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
β-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
γ-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
δ-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
ε-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
η-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
θ-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
イソ-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色
ノル-PCP	ヘキサン・酢酸エチル (9+1)	ホルムリン	シリカゲルプレート (250 μm)	展開後、ホルムリンで発色